

单胺氧化酶(MAO)检测试剂盒(醛苯胺微板法)

产品简介:

单胺氧化酶(Monoamine Oxidase, MAO)是一组催化多种单胺类化合物氧化脱氨的酶,属于细胞外酶,含有铜离子,分布于肝脏、肾脏等组织的线粒体内,其含量分布为肝脏 > 心脏 > 肾脏 > 脑 > 肺 > 骨骼肌,血小板、胎盘中也含有 MAO。线粒体中的 MAO 与膜紧密结合,仅少量为可溶性的,存在于细胞质中,血液和结缔组织中的 MAO 为水溶性。

Leagene 单胺氧化酶(MAO)检测试剂盒(醛苯胺微板法)其检测原理是待测样品在 MAO 作用下,氧化底物苄胺生成苄醛,后者经催化反应生成醛苯胺呈棕红色,通过酶标仪检测 470nm 处吸光度,根据标准曲线即可测出 MAO 活力,100T 试剂盒可检测样本数约为 45 个。该产品仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	TE0251 100T	Storage
试剂(A): 苄醛标准(5mmol/L)		1ml	4°C 避光
试剂(B): MAO Assay buffer		30ml	RT
试剂(C): 苄胺缓冲液		1ml	4°C 避光
试剂(D): 苄醛显色液		5ml	4°C 避光
试剂(E): 苄醛显色缓冲液		20ml	RT
使用说明书			1 份

自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、离心管或小试管、精密天平
- 3、酶标仪、96 孔板、恒温箱或水浴锅

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

- ①血浆、血清和尿液样品: 血浆、血清按照常规方法制备,可以直接用于本试剂盒的测定,尿液通常也可以直接用于测定, -20°C 冻存,用于 MAO 的检测。
- ②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆,低速离心取上清, -20°C 冻存,用于 MAO 的检测。
- ③高活性样品: 如果样品中含有较高活性的 MAO,可以使用 MAO Assay buffer 稀释。

- 2、稀释标准品：用 MAO Assay buffer 稀释苯醛标准(5mmol/L)至 0.5mmol/L，即为苯醛标准工作液(0.5mmol/L)，4℃保存备用，按下表制备标准曲线。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
苯醛标准工作液(0.5mmol/L)	0.8	1.6	3.2	6.4	9.6	12.8
MAO Assay buffer	59.2	58.4	56.8	53.6	50.4	47.2
相当于苯醛(nmol/孔)	0.4	0.8	1.6	3.2	4.8	6.4
相当于 MAO 单位(nmol/h·ml)	12.5	25	50	100	150	200

- 3、MAO 加样：按照下表设置空白管、对照管、标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入(96 孔板中)，并注意避免产生气泡。如样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(μl)	空白管	标准管	对照管	测定管
待测样品(如血清等)	—	—	16	16
MAO Assay buffer	—	—	40	40
苯胺缓冲液	—	—	—	4
混匀，37℃水浴 2h				
MAO Assay buffer	60	—	—	—
系列标准品(1~6 号)	—	60	—	—
苯醛显色液	40	40	40	40
苯胺缓冲液	—	—	4	—
混匀，37℃水浴 20min				
苯醛显色缓冲液	160	160	160	160

- 4、MAO 测定：混匀，96 孔板中以蒸馏水调零，酶标仪 470nm 处测定各孔吸光度(记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)。

计算： MAO 活性单位的定义：在 37℃ 1ml 血清中 MAO 1h 催化底物产生 1nmol 苯醛为一个 MAO 酶活力单位，根据酶活性定义计算出样品中的 MAO 活性。

以 60μl 系列标准品(1~6 号)所含苯醛 nmol 数对应的 MAO 活性单位(nmol/h·ml)为横坐标，以($A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$)吸光度之差值为纵坐标，绘制标准曲线，用待测样品($A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$)吸光度之差值在标准曲线上查出待测样品的 MAO 活性。当酶活力高于 200U/ml 时，应将样品适当稀释后重新测定，结果乘以稀释倍数。

$$\begin{aligned} & \text{标准曲线制作中各管 MAO 活性单位(U/ml 或 nmol/h·ml)} \\ & = \text{苯醛 nmol 数} / (2 \times 0.016) \\ & = \text{苯醛 nmol 数} \times 31.25 \end{aligned}$$

血清 MAO 活力(U/ml 或 nmol/h·ml)
 = 苄醛 nmol 数×N/(t×V_s)
 = 苄醛 nmol 数×31.25×N
 = 标曲中查出的样品 MAO 活性×N
 组织 MAO 活力(U/mg 或 nmol/h·mg)
 = 苄醛 nmol 数×V_T×N/(t×V_s×m)
 = 苄醛 nmol 数×31.25×V_T×N/m
 = 标曲中查出的样品 MAO 活性×V_T×N/m
 式中：V_T=待测样品总体积(ml)

N=待测样品检测前的稀释倍数

V_s=检测时所用样品体积(ml)=0.016

t=反应时间(h)=2

m=待测样品质量(mg)

注意事项:

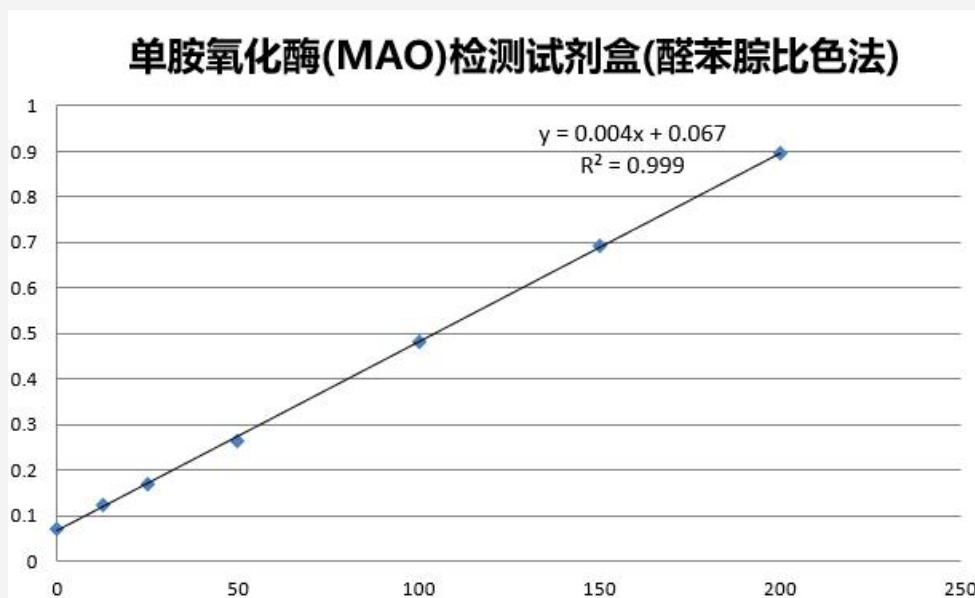
- 1、胆红素浓度小于 257μmol/L，血红蛋白浓度小于 4g/L，对 MAO 活力检测没有影响。
- 2、标准曲线制作中各管苄醛 nmol 数乘以 31.25 得 MAO 活性单位数。
- 3、若将上述定义的酶活性单位更换为国际单位，应除以 60。
- 4、加入苄醛显色缓冲液后，应 1h 内检测完毕。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 6、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期: 6 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
DP0013	GUS 染色液(即用型)
NR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
PE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
TC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
TE0231	腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏微板法)
TE0700	谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)检测试剂盒(微板法)
TO1001	总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(ABTS 微板法)

附录：参考标准曲线范围：Leagene 在室温条件下通过分光光度计 470nm 测定 MAO 活性标准在 0、12.5、25、50、100、150、200U/ml 时的吸光度，并做出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有不同，该值仅供参考，对于要求精确计算苯醛含量的，可以进行多点重复测定；根据 Leagene 测定经验显示 12.5U/ml 以下、200U/ml 以上标准曲线会有偏差。